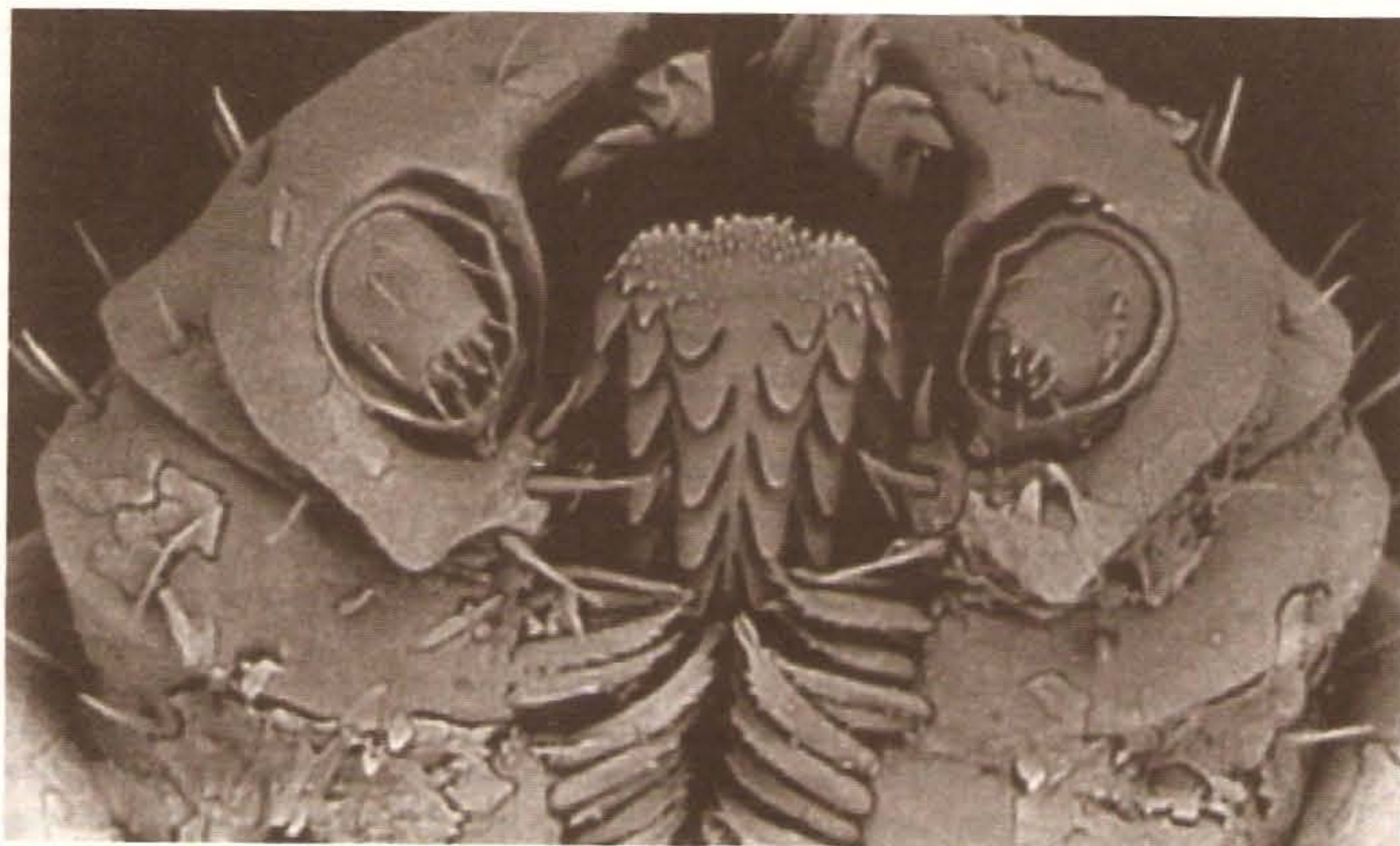


A TRAVÉS DEL



MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO:



UN VIAJE FANTÁSTICO

ANDRÉS BOLTOVSKOY (*)

¿Cómo era posible que nunca se le hubiera ocurrido pensar en ello, en los mundos microscópicos y submicroscópicos? Siempre había sabido que existían. Sin embargo nunca estableció la evidente relación. Siempre había pensado en términos del propio mundo del hombre y de las propias dimensiones limitadas del hombre. Había hecho suposiciones acerca de la naturaleza. Porque el milímetro era un concepto humano, no un concepto de la naturaleza. Para el hombre cero milímetros significaba "nada". El cero significaba la nada.

Pero para la naturaleza no existía el cero.

Richard Matheson

El hombre menguante

A través del cristal

La criatura humana no está fatalmente forzada a someterse al cautiverio que le imponen sus facultades perceptivas, a decir verdad, bastante limitadas. Más aún, la especie humana incluye una buena proporción de individuos curiosos que no se resignan a quedarse con lo más inmediato o lo evidente, intentando acercarse de alguna manera a lo remoto o inabordable. Un gran auxilio para ello son los artilugios ópticos que permiten observar con detalle aquello que resulta más inasequible, ya sea por su lejanía o por su pequeñez. Podría considerarse que se trata de poco más o menos lo mismo, dado que lo lejano se ve pequeño. Así, valiéndose de la óptica, algunos sujetos consagran parte de su tiempo a explorar ventanas ajenas o, en los días de más calor, azoteas. Otros, en cambio, espían lo diminuto. La primera actividad poco agrega al caudal de conocimientos, salvo, tal vez, a nivel individual. La segunda, suele revelar un mundo sorprendente y, a veces, conducir a maravillosos descubrimientos. Esta última se vale de los microscopios.

La palabra microscopio viene del griego (*micro* y *scopeo*) y su significado es *observar lo pequeño*. Durante el primer siglo de nuestra era el viejo Plinio, más tarde conocido como Plinio el Viejo, describe los primitivos microscopios simples, en realidad lupas, consistentes en balones de vidrio llenos de agua. Sin embargo, algunos antiguos trabajos de finísima orfebrería hacen suponer que las lentes de aumento ya se conocían desde hacía unos 500 años. El que se considera como el padre de la microscopia aparece recién en el siglo XVII. Es el holandés Anton van Leeuwenhoek, el primero en examinar bacterias, ciliados, eritrocitos y espermatozoides. Sus observaciones se cuentan entre las que comenzaron a poner en duda la teoría de la generación espontánea. Durante los tres siglos que siguieron se le ha dedicado mucho tiempo y

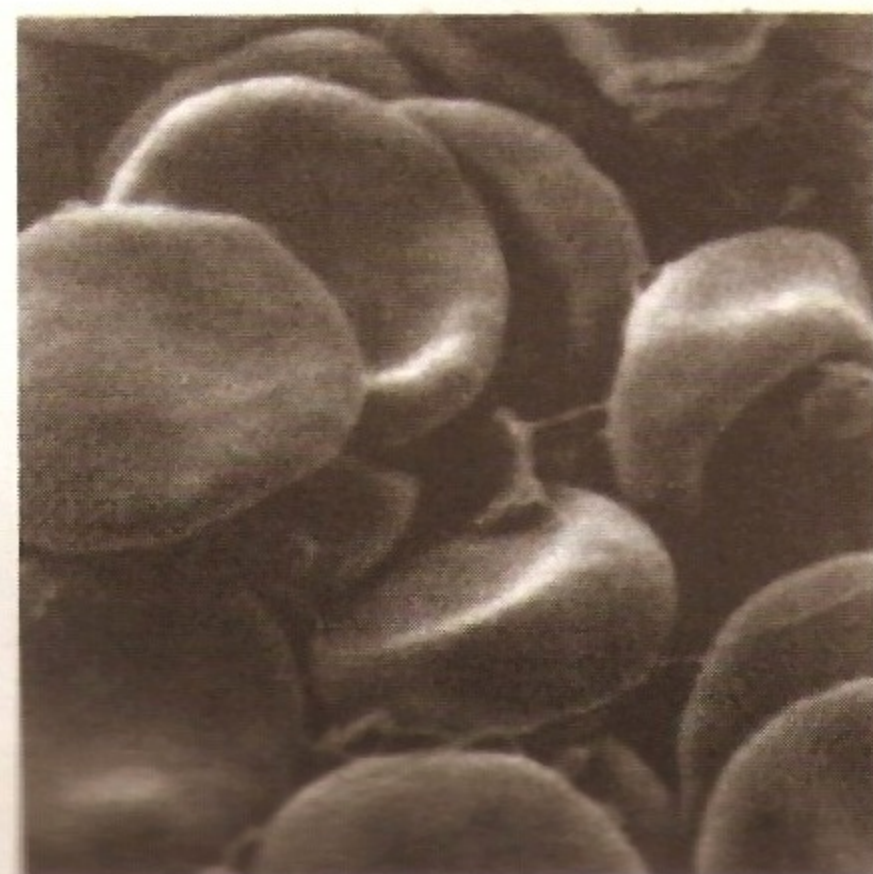
más talento a imaginar, diseñar, construir y perfeccionar instrumentos ópticos. Éstos trabajaban básicamente de acuerdo con las mismas leyes con las que funciona el sentido de la vista. Se basaban en los principios de la propagación de la luz, valiéndose de lentes y el auxilio de prismas y espejos. Como resultado final, se logró multiplicar la capacidad de percepción del ojo humano hasta el límite que impone el poder de resolución de un microscopio que utilice el rango de luz visible, que es de unas 2 diezmilésimas de milímetro, o sea, $0,2 \mu\text{m}$.

La resolución es la separación mínima a la que deben encontrarse dos puntos para seguir siendo apreciados como puntos independientes. Superada la capacidad de resolución, la imagen obtenida puede seguir ampliándose indefinidamente sin que aparezcan nuevos detalles. Aquí es donde el microscopio compuesto llega al confín de sus posibilidades para escudriñar lo pequeño por medios relativamente directos. Sin embargo, esto no representa el final para el afán humano de poder discernir objetos de tamaño aún más reducido. Para superar la restricción que impone el empleo de la luz, son creados, como extensión de nuestros sentidos, poderosos instrumentos electrónicos que toman la información de manera indirecta y luego la transforman en algo accesible para el ojo. La ventaja de los electrones consiste en que se propagan con una longitud de onda bastante menor a la de la luz, lo que se traduce en un mayor poder de resolución. Y esto equivale, a su vez, a la posibilidad de obtener imágenes nítidas con aumentos mucho mayores. Los primeros microscopios electrónicos comerciales (posteriormente llamados *de transmisión* - MET) aparecieron a comienzos de la Segunda Guerra Mundial, en 1939. En cambio, el Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) es un cuarto de siglo más joven: comienza a comercializarse en pleno apogeo hippy, en 1965.

MET versus MEB

Las diferencias más importantes entre distintos tipos de microscopios no sólo residen, como se cree

UNA ADMIRADORA DE BRAM STOKER
Y SU ALIMENTO PREDILECTO:
El rostro ciego de una garrapata canina
con su dardo perforador (ancho aprox.
0,5 mm). Abajo: eritrocitos humanos
descansando. Por cada milímetro
cúbico de sangre hay como
4 ó 5 millones de ellos.



habitualmente, en su capacidad de magnificación, sino en la forma en que funcionan y la finalidad para la que están diseñados. El microscopio binocular estereoscópico sirve básicamente para la observación tridimensional de objetos con iluminación reflejada. El microscopio óptico tiene la posibilidad de aumentar al menos dos veces más, pero trabaja con luz transmitida, o sea la que atraviesa el preparado, de modo que resulta especialmente útil para la observación de secciones, cultivos de tejidos o células u organismos extendidos (e.g. frotis, plancton). Una relación muy similar existe entre el MEB y el MET. Tanto uno como otro emplean electrones y no rayos lumínicos para formar una imagen y con ambos se pueden lograr aumentos muy superiores a los posibles con sistemas ópticos, pero mientras que el MEB presenta una imagen reflejada, el MET ofrece una imagen transmitida (como si fuera por transparencia, como en el caso de una diapositiva). En consecuencia, el MEB se utiliza fundamentalmente para estudios topográficos, y proporciona imágenes de la superficie de los objetos, independientemente de su espesor, y el MET sólo permite examinar películas o cortes ultradelgados, dando imágenes de aspecto plano⁽¹⁾. La capacidad de magnificación del primero también es bastante menor: su rango de posibilidades de ampliación se superpone con los microscopios estereoscópico y compuesto, en un extremo, y la capacidad media del MET en el otro.

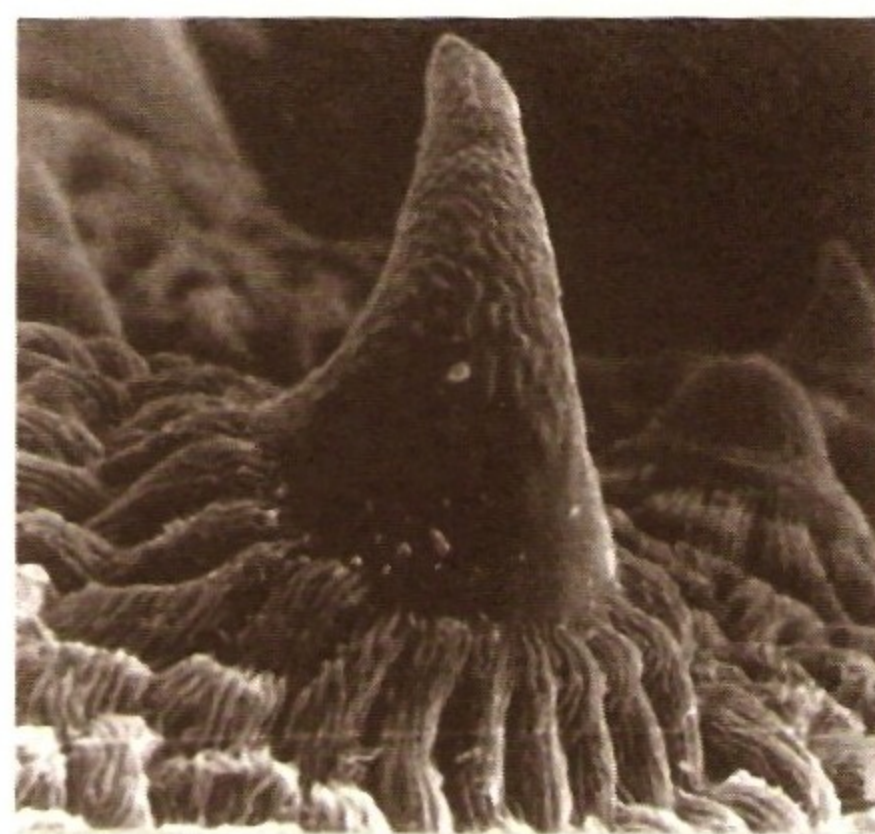
Mi primera aproximación al MET data de la escuela secundaria. Habíamos terminado con el estudio de las estructuras básicas de la célula. Nuestro profesor de biología, hojeando una revista, comentó que la célula se veía de manera totalmente diferente al ser examinada con el microscopio electrónico. Acto seguido alzó la revista por sobre su cabeza para que podamos apreciar una lámina. En efecto, la imagen era completamente diferente: vimos con

asombro una ilustración, que más tarde reconocí como el *Conjunto multicolor* de Kandinsky. Éste era uno de los disparates deliberados con los que el educador nos mantenía despiertos durante sus clases. Una vez acalladas las risas contemplamos, algo desencantados, la verdadera imagen, llena de grises, de la célula fotografiada mediante el microscopio electrónico.

Más allá de su extraordinario valor para la ciencia, las imágenes del MET son poco atractivas para el lego: de aspecto plano o bidimensional, de laboriosa interpretación, con manchas de diferentes tonos de grises que remedan vistas aéreas de campos, o paisajes poco hospitalarios surcados por oscuras carreteras y supuestas pistas de aterrizaje sólo visibles desde el espacio. Una visión muy diferente ofrecen, como veremos, las imágenes obtenidas con el MEB.

Poderes especiales

El MEB es una herramienta muy versátil en cuanto al tamaño de los especímenes que pueden ser examinados; admite objetos que miden desde fracciones de micrómetro hasta varios centímetros. La platina adopta movimientos según los ejes X e Y, de giro y de inclinación del espécimen, permitiendo su observación desde casi cualquier ángulo. Sólo queda oculta su superficie de apoyo, que es la que se encuentra adherida al portaespecímenes. Puede alcanzar hasta un máximo de 500.000 aumentos, dependiendo del modelo de microscopio y de las condiciones de trabajo. Esto equivale a un poder 300-400 veces mayor que el del microscopio óptico. Pero la gran innovación que se introduce con el MEB no es su capacidad de magnificación (superada por el ME de Transmisión) sino la gran profundidad de campo, es decir, la distancia máxima sobre el eje óptico en la que las imágenes se ven con nitidez y no desenfocadas (también



CÁÑAMO: Haz y envés de una hoja de *Cannabis*, planta bastante popular entre los hippies de los años sesenta: extraño paisaje para un viajero extraviado; 400 y 750 aumentos, respectivamente.



PIEL DE LIJA: Los denticulos dérmicos hacen que la piel del tiburón se sienta al tacto como papel de lija. Precisamente lija se utiliza como nombre vulgar para algunos tiburones. Antiguamente su piel se utilizaba para lijar o pulir. El largo medio de cada denticulo es de 0,3 mm.

(1) Si bien esto es básicamente cierto, en ocasiones se utiliza también el MET para estudiar estructuras superficiales, pero no directamente, sino a través del examen de muy delgadas réplicas creadas mediante el sombreado con carbón. De igual forma el MEB permite estudiar estructuras internas, examinando la superficie expuesta de células congeladas y quebradas según las técnicas de criofractura y criocorrosión.

unas 300 veces superior a la del MO).

En las fotomicrografías obtenidas con el MEB casi siempre se pueden apreciar objetos o superficies, a veces de apariencia fantástica, pero con relieves definidos, donde las áreas hundidas se muestran oscuras, y las salientes proyectan sombras, tal como se apreciaría en un paisaje macroscópico con iluminación tangencial. La gran profundidad de campo hace que aun los objetos de gran espesor aparezcan enteramente enfocados. Todo esto facilita la percepción por parte del ojo humano y mejora la comprensión de las relaciones espaciales entre las estructuras en estudio y por lo tanto facilita su correcta interpretación. Estas características hacen del MEB una herramienta sumamente útil en una gran variedad de campos de investigación básica y aplicada, así como en educación (ver el recuadro de las aplicaciones del MEB).

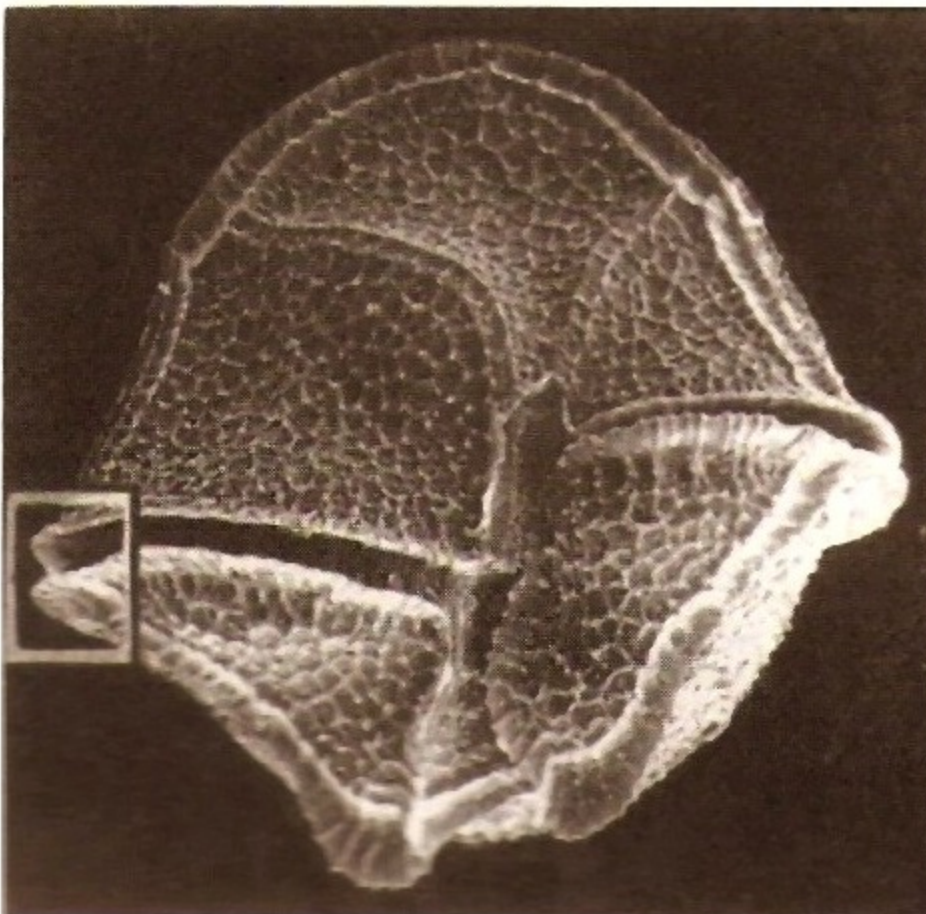
MEB, percepción y sistemática

La ordenación de los seres vivos según principios lógicos (sistemática) y la teoría de la evolución, se asientan en la morfología. El morfólogo acostumbra a basarse no sólo en su propio material, sino también en publicaciones de otros científicos. La mayoría de éstas describe o ilustra sólo aquello que el autor considera como más importante. Pero cuando las ilustraciones son fotomicrografías de MEB, su riqueza en información suele superar

ampliamente la descripción escrita. La información adicional se encuentra ahí mismo, en la imagen, a disposición de cualquiera que decida efectuar un nuevo análisis, relacionando o descubriendo elementos que habían pasado inadvertidos o que habían sido considerados como carentes de valor por sus predecesores. Y, más aún, esa información se encuentra libre de toda distorsión subjetiva, siendo mucho más fiel al material original que un dibujo o una descripción. Pero veamos otra ventaja que tiene que ver con el modo en que las fotografías de MEB pueden ser apprehendidas.

Los factores que intervienen en la psicología de la percepción humana son sumamente complejos. Por eso los psicólogos prefieren experimentar con chimpancés. Los chimpancés participan de estas experiencias *ad honorem*, lo cual representa una ventaja adicional. A través de estos animalitos se ha descubierto que un objeto (o una situación) es percibido por el cerebro más como una totalidad (técnicamente llamada Gestalt), que como la suma de sus características. Para los gestaltistas el triángulo es inmediatamente apreciado como una figura y no como tres líneas independientes. En muchos casos también el proceso de clasificación de objetos u organismos depende del impacto de una apreciación global: una evaluación casi instintiva o intuitiva (no analítica), que conduce a la inmediata asociación con otras entidades afines. Por la extraordinaria riqueza informativa de sus imágenes de *cuerpo entero* que pueden ser abarcadas de un solo golpe de vista, es que el MEB resulta tan útil en los estudios morfológicos, y en particular los aplicados a la sistemática. En contraposición, las imágenes de MO y MET requieren interpretaciones de tipo asociacionista basadas en la reconstrucción de secciones, sean éstas reales o virtuales (cortes ópticos), como si se tratara del armado de un rompecabezas tridimensional. Lo maravilloso es que las fotomicrografías obtenidas mediante el MEB ofrecen, al mismo tiempo, una inmejorable posibilidad para el examen analítico de los detalles estructurales. No obstante lo expuesto, no se debe caer en el error de suponer que el MEB puede sustituir

ACORAZADO: *Peridinium*, flagelado dulciacuícola pariente de los agentes causantes de la *marea roja* oceánica. ¿Alga itinerante o animal fotosintético? Diámetro = 60 μm (izquierda, 850x; detalle de la derecha, 5500).



totalmente al MO o al MET. Estos últimos poseen valiosas cualidades propias que los hacen irremplazables en un sinnúmero de tareas de investigación para las que el MEB resultaría ineficaz.

El MEB en acción

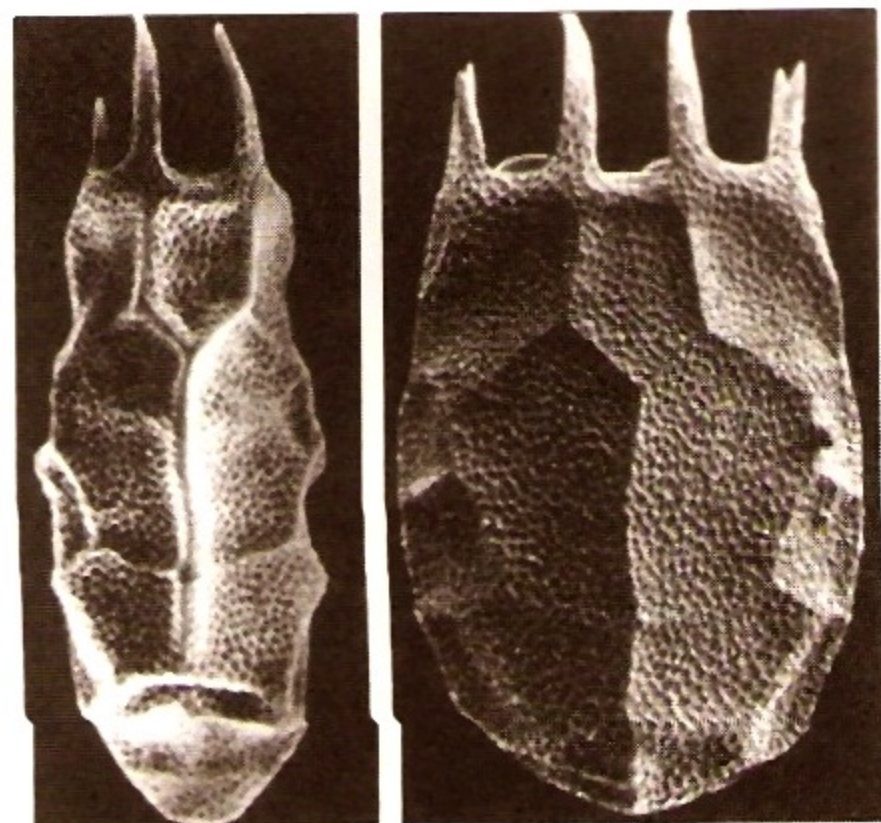
Siempre es posible, sacrificando algunos detalles técnicos, explicar aquello que es más o menos complejo de manera más o menos simple. Sin embargo, hay personas para las que el funcionamiento íntimo de los aparatos electrónicos, aun el de los más familiares y cotidianos, despierta una incondicional y terminante falta de interés. Tales personas pueden saltar esta sección sin ninguna clase de escrúpulo.

Ya durante el primer cuarto de nuestro siglo se descubrió el paralelismo existente entre el efecto de una lente de cristal sobre un rayo de luz y el efecto de un campo eléctrico sobre un haz de electrones. De allí surge el término *óptica electrónica*. Así como el microscopio óptico consta de un cilindro hueco, llamado tubo, dentro del cual está alineada la óptica, el MEB tiene un cilindro hueco, denominado columna, donde se encuentran los dispositivos electromagnéticos o lentes electrónicas que guían a los haces de electrones. Sólo que aquí, a diferencia del MO, el espécimen se ubica en el interior del cilindro.

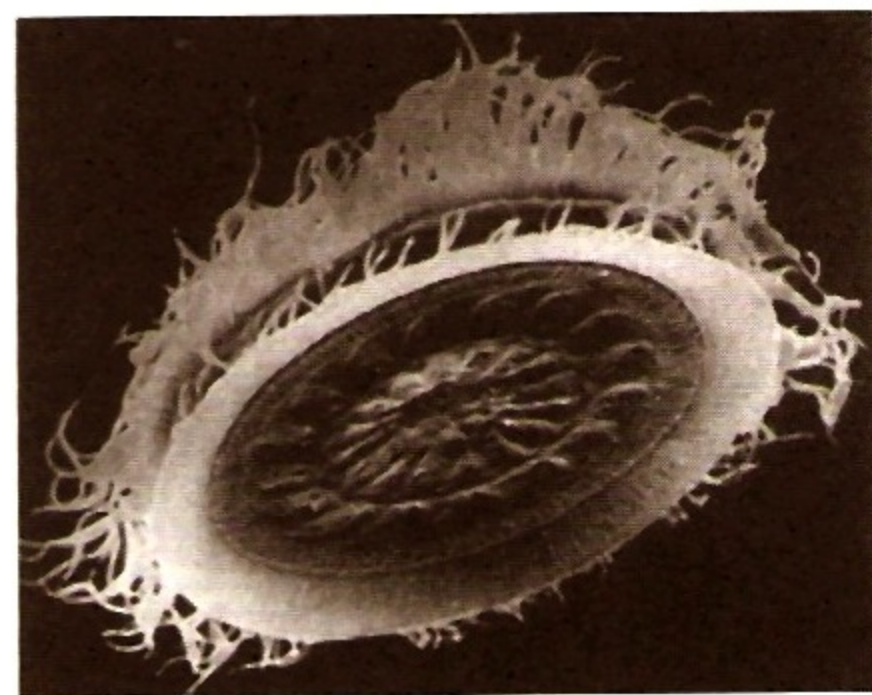
En el extremo superior de la columna del MEB se encuentra un filamento de tungsteno, el que al ponerse incandescente emite electrones. Éstos son dirigidos hacia

una cámara ubicada en la base de la misma, donde se encuentra la muestra montada sobre un taco metálico soportado por una platina móvil. La superficie del espécimen a examinar es recorrida (barrida) por un haz de electrones, de milésimas de micrómetros de espesor, según una trayectoria predeterminada, generalmente en forma de líneas sobre una superficie cuadrangular. El espécimen así bombardeado emite electrones secundarios los que son captados por un colector y, tras un proceso de aceleración y amplificación, son utilizados para formar la imagen.

El MEB no posee oculares, puesto que el ojo humano no puede percibir los rayos catódicos. En cambio, se emplea un dispositivo de alto vacío con un cátodo en un extremo y una pantalla fluorescente en el otro: es el popular tubo de rayos catódicos, componente más conspicuo de los televisores. Los rayos de intensidad variable emitidos por el cátodo recorren, también en forma de barrido, la superficie interna de la pantalla. Como la fluorescencia es la propiedad de reflejar ondas de mayor longitud que las recibidas, la señal electrónica se transforma en una señal luminosa, formando una imagen perceptible para el ojo humano. El barrido del haz primario de electrones sobre la muestra se encuentra sincronizado con el barrido de la pantalla. La superficie de la pantalla es, obviamente, constante, pero el área de barrido sobre el espécimen es regulable. En consecuencia, al irse reduciendo esta última, la pantalla ofrece imágenes



DESECACIÓN: Rotíferos del género *Keratella*, microorganismo habitual de las aguas dulces (miden 125 μ m). Resultado de un secado espontáneo y uno por sublimación.



DESGREÑADO: Un tricodino, protozoo ciliado, comensal o parásito en peces y renacuajos con un disco adhesivo de unos 35 μ m de diámetro. La naturalidad de la cabellera (ciliatura) jamás se hubiese logrado sin el empleo de una técnica que soslayara el efecto ruinoso de la tensión superficial.

Turismo

DNST Leg. 305

**36 años de experiencia
que no se cobra.**

Calle 8 N° 653, Local 10
Tel. (021) 21-9242
(Frente al Ministerio de Economía)

cada vez más ampliadas. Habitualmente los MEB constan de dos pantallas. Una de ellas, para la observación directa, con un barrido de resolución semejante a la de un televisor (unas 600 líneas). La otra, de alta definición (1000 líneas), se utiliza para el registro fotográfico.

Actualmente existen los así llamados MEB ambientales, que permiten la observación de muestras no conductivas, e incluso muestras húmedas. En lo que respecta al MEB corriente, los materiales a ser examinados deben cumplir con dos requisitos básicos: estar secos y ser eléctricamente conductivos. Aquellos que contengan humedad deberán ser secados y los que no sean naturalmente conductivos (la mayoría) deberán ser recubiertos por una capa metálica.

Lo que mata es la humedad

El filamento incandescente de una bombilla eléctrica se funde inmediatamente en contacto con el oxígeno del aire. Igual suerte correría el filamento del MEB. Esta es una de las razones por las que la columna del MEB trabaja con alto vacío. La otra es que las moléculas del aire, que no ofrecen mayor obstáculo para los rayos lumínicos, constituyen una seria interferencia para los electrones. Lo mismo vale para otros gases, como por ejemplo el vapor de agua, determinando que los preparados deban estar libres de humedad.

Los especímenes más o menos rígidos (esqueletos de microorganismos silíceos o calcáreos, hueso, piezas dentarias, piezas de alfarería, minerales, metales, etc.) por lo general se encuentran naturalmente secos. En cambio materiales biológicos tales como la mayor parte de los microorganismos, células y tejidos animales y vegetales, deben ser secados previamente. Durante el proceso de secado habitualmente es necesario atenuar o evitar los efectos destructivos de las fuerzas de tensión superficial. Estas fuerzas se originan en las cavidades microscópicas cuando existe la interfase líquido-gas (agua-vapor) y hacen que los materiales blandos se

distorsionen o colapsen. Hay varias maneras de evitar que los materiales lábiles se deformen. En primer lugar, es posible atenuar las fuerzas de tensión reemplazando el medio acuoso en que se encuentra normalmente la muestra biológica por algún medio con menor tensión superficial (alcohol, xileno, acetona). Por su parte, la fijación química puede ayudar a endurecer las muestras biológicas, que de esa manera se vuelven más resistentes. Por ejemplo, el formaldehído provoca el endurecimiento precipitando las proteínas. El resultado es similar al que se obtiene hirviendo un huevo de ave: éste se convierte en *huevo duro* gracias a que las proteínas precipitan con el calor. Con frecuencia es necesario recurrir a técnicas más complicadas, como la de la sublimación o la del punto crítico, que permitan eludir la tensión superficial durante el proceso del secado. En el caso de la sublimación la muestra se congela y luego se volatiliza. La sublimación es el paso directo del estado sólido al gaseoso (o viceversa). En la interfase hielo-vapor no hay tensión superficial. Sustancias como la naftalina o el hielo seco (dióxido de carbono sólido) subliman a presión atmosférica. Pero el agua (hielo) requiere una presión más baja, la cual se logra, por ejemplo, mediante una bomba de vacío aplicada a un desecador.

El principio del punto crítico es algo más complicado, pero basta decir que para cada fluido existen determinadas condiciones de presión y temperatura en que las densidades de la fase líquida y la gaseosa se equiparan (el punto crítico), de modo que ambas fases se mezclan. Al desaparecer la interfase no puede haber tensión superficial. En estas condiciones es suficiente una ligera descompresión para que todo el fluido pase a la fase gaseosa y la muestra inmersa en él quede seca sin sufrir deformaciones. Los materiales biológicos se presentan naturalmente en medio acuoso, pero la temperatura y la presión a las que el agua alcanza el punto crítico (374 °C y más de 200 atmósferas) resultan destructivas para la mayor parte de ellos. Entonces, para obtener condiciones de secado más favorables, el agua debe ser reemplazada por algún otro líquido de punto crítico



SIN ANESTESIA: Herramienta de tormento empleada por los dentistas en el tratamiento de conducto. Abajo: Una oospora de carófito (un alga), del mismo tamaño. (¿Quién imita a quién?) La primera, no requiere una cobertura metálica para ser examinada al MEB. La segunda, sí. Diámetro de la broca y de la oospora: 0,6 mm.

más apropiado, como, por ejemplo, el dióxido de carbono.

Un grano de uva puede servir de modelo macroscópico para ilustrar la diferencia que existe entre el aspecto de un espécimen bien preparado y el producto de un secado evaporativo. Secado al aire se transformaría en una pasa de uva, pero si se lo deshidrata por sublimación o mediante el punto crítico, su forma no se vería alterada. Su peso no sería mucho mayor que el de una esferita de poliestireno expandido, pero sus estructuras mantendrían su forma original.

Cable a tierra

Los objetos bombardeados por electrones dentro del MEB no deben cargarse eléctricamente. La carga podría distorsionar la imagen y recalentar la muestra, dañándola. Por ello los especímenes que no son naturalmente conductivos tendrán que ser recubiertos de una capa de metal que asegure la descarga a tierra a través de la platina. El metalizado se lleva a cabo dentro de una pequeña campana de cristal mediante la vaporización o la ionización del metal que se condensa o se deposita sobre los especímenes envolviéndolos con una película uniforme. El manto depositado es de 10-30 nanómetros de espesor, lo que equivale a 10-30 millonésimas de un milímetro. Aunque generalmente se emplea para ello el oro o una aleación de oro y paladio, la delgadez de la cobertura no responde al afán de economizar. La capa de pintura debe asegurar la descarga a tierra, pero sin enmascarar los detalles texturales o topográficos de la muestra. Que el metalizado oculte la coloración del espécimen carece de importancia, puesto que de todas maneras los electrones no son capaces de diferenciar los colores: las imágenes del MEB son monocromáticas.

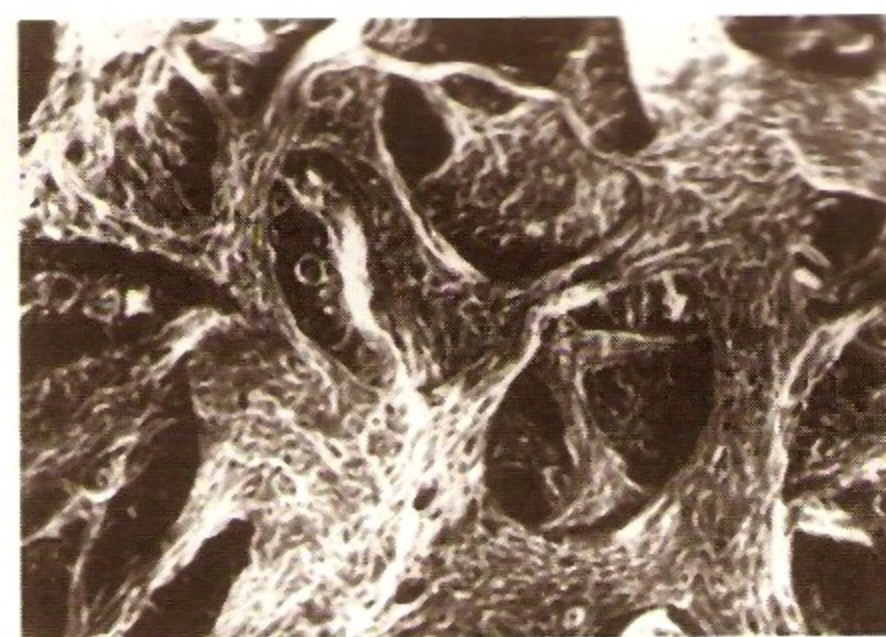
Aventura microscópica

Entre las fantasías más antiguas del hombre están las de volar, poder atravesar las paredes, volverse invisible o hacerse muy pequeño. Por eso fueron creados el amor, la dinamita, las dietas y los microscopios. Pero

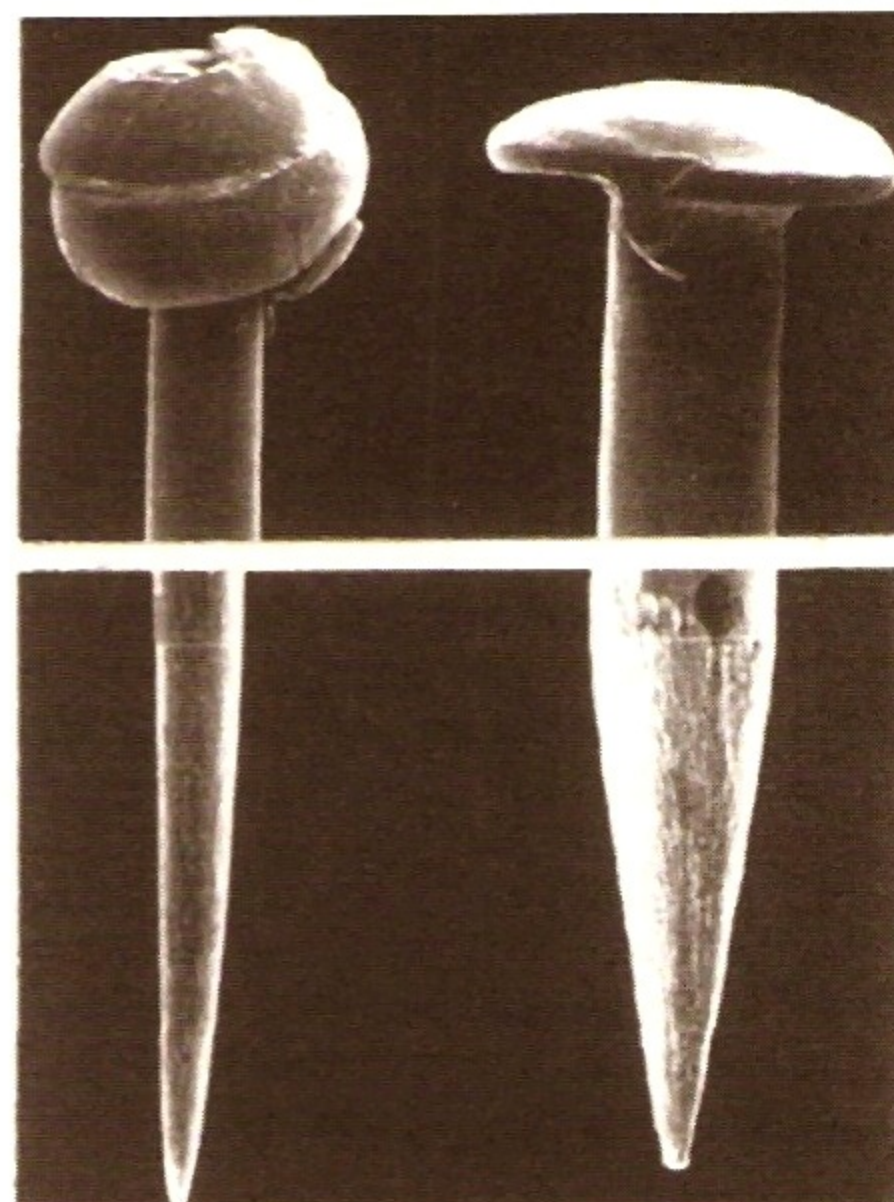
estos últimos sólo para aquellos que se atreven a trasponer las lentes o las pantallas, tal como Alicia se atrevió a atravesar el espejo.

... En 1956, unos diez años antes de que comenzaran a salir a la venta los primeros MEB, se publicaba la novela de Richard Matheson *The shrinking man* (más tarde editada por Bruguera como *El hombre menguante*). En menos de un año el relato era trasladado al cine, contando con efectos especiales asombrosos para la época (*The incredible shrinking man*, 1957, Jack Arnold). La historia narra la tragedia de Scott Carey, un hombre como cualquier otro, que debido a circunstancias que sería inoportuno analizar aquí, comienza a encogerse a razón de exactamente 3,5 mm por día. Transcurrido cierto tiempo llega a tener la altura de Beth, su pequeña hija, y más adelante, cuando su gato comienza a representar un peligro para él, se refugia en la casita de muñecas de aquélla. Scott Carey termina por perderse en el sótano de su casa, viviendo dentro de las oquedades y galerías de una esponja y alimentándose de viejas migajas de galletas. Para sobrevivir debe derrotar a una viuda negra del tamaño de un caballo, a la que ve como un gigantesco huevo negro encaramado sobre zancos articulados. El arma que emplea Scott es, a modo de lanza, un alfiler de costura.

Dejando de lado el detalle que, en realidad, las viudas negras prefieren vivir al aire libre, cabría imaginar que si su mujer e hija hubieran sido menos descuidadas con él y no lo hubieran dejado extraviarse, y suponiendo que Scott no hubiera seguido encogiéndose vertiginosamente, podría haber conocido el tupido bosque que representaba la cabellera de Beth y tal vez haber luchado para librarla de los descomunales monstruos conocidos vulgarmente como piojos, o ver nacer sus crías de los huevos adheridos a los troncos. Podría haberse asombrado con las extravagantes formas de los restos silíceos de microorganismos fósiles entre las partículas del abrasivo empleado por su mujer para pulir los



REFUGIO LÚGUBRE PERO SEGURO: Intersticios de una esponja sintética cuyas cavernas más grandes miden cerca de 1 mm.



CLAVILLOS: Cabezas y puntas de un alfiler entomológico y de uno de costura (0,4 y 0,7 mm, respectivamente, en la parte cilíndrica).

De la figura se infiere la razón por la que los entomólogos emplean alfileres especiales para ensartar sus insectos.



OJITOS: Frente a frente con *Filistata*, una araña que acecha en los rincones. Su superioridad sobre un ser humano consiste en que, además de las ocho patas, posee cuatro pares de ojos, los que le brindan una visión circular (aunque algo miope). Ancho del cefalotórax a la altura de los ojos: 2 mm.



DURO DE MATAR: *Pediculus*, un bebé de piojo humano de aprox. 2 mm, jugando con un cabello, y una liendre adherida a un pelo. El espesor del pelo es de una décima de milímetro (100 μ m).



Diez años del MEB en el Museo de La Plata

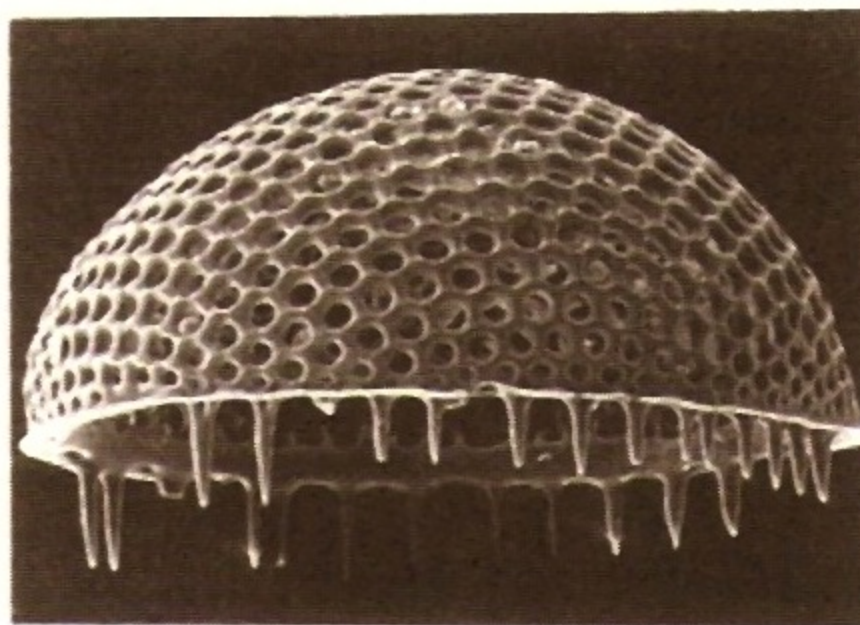
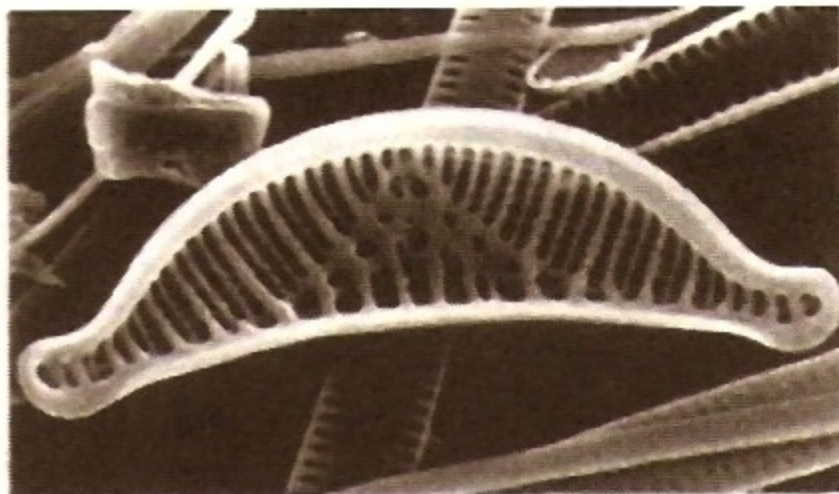
El 3 de agosto de 1987 fue inaugurado en el Museo de La Plata el Microscopio Electrónico de Barrido Jeol JSM T100 con un metalizador de rociado iónico Jeol JFC-1100, obtenidos a partir de un convenio entre la UNLP y la Provincia de Tokushima, Japón. Desde entonces funciona sin interrupción un servicio de microscopía arancelado, económicamente accesible. Además de los investigadores pertenecientes al Museo y a la Universidad Nacional de La Plata, en general, requieren de sus servicios numerosos usuarios provenientes tanto del interior del país como del extranjero (Uruguay, Brasil). Desde 1995 se ha agregado el servicio de secado de materiales lábiles por punto crítico. El equipo, Balzers CPD 030, fue obtenido gracias a un subsidio de la Fundación Antorchas. En el Servicio del MEB del Museo de La Plata se ha trabajado con la mayor parte de los materiales que se enumeran en el recuadro de sus aplicaciones.

DIMINUTOS ESQUELETOS: Tres de los miles de formas de esqueletos silíceos de protistas que forman parte del plancton y de muchos depósitos fósiles.

Izq.: Silicoflagelado fósil, componente de la diatomita (20 μ m). Arriba y abajo: Una diatomea y un radiolario actuales, respectivamente (longitud = 30 μ m).



adornos de bronce de la casa. Hubiera podido recorrer insospechados paisajes sobre las superficies foliares de las plantas de su hogar. Entre las rocas, que para él representaría el polvo, encontraría una infinita variedad de formas y



diseños de granos de polen dispersos por todas partes y hubiese podido alimentarse de su vigorizante contenido si encontrara la forma de vencer la tenacidad de sus cubiertas.

Con sólo esperar diez años más (a la par de la aparición de los primeros MEB comerciales), Scott podría haber participado de un viaje fantástico junto a Raquel Welch (*Fantastic voyage*, 1966, de Richard Fleischer), donde un equipo de cirujanos y científicos, provistos de un vehículo subacuático, son reducidos al tamaño de bacterias, a fin de penetrar en el cuerpo de un fulano y realizar desde adentro una delicada extracción de cerebro. Allí, obligado a recorrer el torrente sanguíneo, Scott debería contener la agresividad de los leucocitos y esquivar glóbulos rojos del tamaño de ruedas de tractor... tal como se verían al MEB.

Podríamos imaginar a Scott y su nueva compañera en otra aventura, con su minisubmarino. Por ejemplo, dentro de un pequeño acuario, o un frasquito con una muestra de plancton de lago o de mar recién colectada, donde se encontrarían con una cantidad de seres extraños y el soberbio espectáculo ofrecido por los complicados diseños arquitectónicos de las cubiertas y esqueletos de diversos microorganismos. Pero la verdad es que el hombre menguante siguió encogiéndose hasta perderse quién sabe dónde. Raquel Welch, felizmente, recobró su tamaño natural. La carroza volvió a convertirse en zapallo y... nosotros, para poder apreciar el mundo microscópico en todo su esplendor y realismo, debemos recurrir al MEB. Sólo que tenemos que conformarnos con paisajes en blanco y negro.

Agradecimientos. A Mirta García, Alda Gonzalez, Silvia Sala, Cristina Villalobos, Patricia Sarmiento y Rafael Urréjola, quienes me socorrieron con la provisión de fotomicrografías o materiales utilizados para ilustrar este artículo. Otra vez a P. S. y R. U. por su buena disposición y asistencia en las tareas de preparación de materiales y obtención de algunas de las fotomicrografías. A mi hermano Demetrio y a José M. Guerrero por haber ayudado a mejorar este manuscrito.

Lecturas sugeridas

Boltovskoy, A. 1995. Técnicas de microscopía electrónica de barrido: aplicación a las microalgas. En: Alveal, K. et al. (ed.), Manual de métodos ficológicos. Universidad de Concepción, Concepción, pp. 119-138.

Heywood, V. H. 1971. Characteristics of the scanning electron microscope and their importance in biological studies. In: Heywood, V. H. (ed.), Scanning electron microscopy. Systematic and evolutionary applications. Academic Press, London, New York, pp. 1-16.

Kessel, R. G. y C. Y. Shih. 1976. La microscopía electrónica de barrido en biología [Atlas de organización biológica para estudiantes]. Dossat, Madrid.

Maugel, T. K., D. B. Bonar, W. J. Creegan and E. B. Small. 1980. Specimen preparation techniques for aquatic organisms. Scanning Electron Microscopy 2: 57-77.

Murphy, J. A. and M. R. C. Roomans. 1984. Preparation of biological specimens for scanning electron microscope. Scanning Electron Microscopy, Inc., AMF O'Hare.

Sistema de medidas en Liliput

J.G. ¿Cuánto mide un micrón?

H.C. No sé, debe ser un poquito más grande que un átomo.

(Fragmento de un diálogo suscitado en un programa matinal de una importante radioemisora de la ciudad de Buenos Aires el 2/9/1997.)

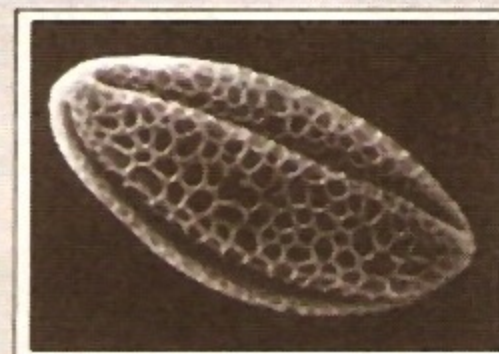
La impresión, bastante generalizada, de que no hay mayor diferencia de tamaño entre dos cosas que son muy pequeñas, se debe seguramente a que se confunde *pequeñez* con *insignificancia*. Desde tal punto de vista, puede parecer obvio que el micrón sea un *poquito* más grande que el átomo. Pero la verdad es que la relación entre un micrón y el diámetro de un átomo es la misma que hay entre la altura del Aconcagua y la de un San Bernardo adulto. Un *micrón*, una *micra* o, más correctamente, un *micrómetro* es la milésima parte de un milímetro o la millonésima parte de un metro (en el país de Liliput se sigue empleando el sistema métrico decimal). Para evitar tantos ceros decimales el micrómetro y las unidades aún más pequeñas suelen expresarse en metros con exponentes negativos:

* Micrómetro (μm) = 10^{-6} metros

* Nanómetro (nm) = 10^{-9} metros

* Ångström (Å) = 10^{-10} metros

Justamente el diámetro del átomo se encuentra en el orden del Ångström.



Una muestra más de la abismal enormidad de lo pequeño se puede encontrar sobre los estambres de la flor de la enredadera conocida como bignonia rosada. Su grano de polen mide unos 50 μm . Tiene la apariencia de un melón (ver figura), el que es 5000 veces más grande. Esto es en medidas lineales. Pero en volumen ese melón equivale al de 100.000.000.000 (cien mil millones) de granos, cifra igual a 20 veces la población mundial de 1987. Puestos en cadena esos granos podrían cubrir la distancia que hay entre el extremo norte de Bolivia y el sur de Tierra del Fuego.

* Departamento Científico Ficología, Museo de La Plata; investigador del CONICET.

Ejemplos de aplicaciones del MEB en diferentes campos

* **Alimentos:** Control de calidad de alimentos secos (sopas, gelatinas, suplementos dietéticos algales, etc.), tipos de almidón.

* **Agronomía y entomología:** Morfología de las estructuras quitinizadas y huevos. Acción de los insecticidas sobre etapas de los ciclos de vida de plagas y vectores, o de insectos beneficiosos como las abejas.

* **Arqueología:** Materiales como cerámica, maderas, alimentos, textiles.

* **Botánica:** Polen, semillas, hojas, madera (cortes).

* **Comunicación visual:** Aprovechamiento del impacto de la imagen MEB en campañas educativas (por ejemplo, exhibición de los agentes patógenos en educación sanitaria contra la pediculosis).

* **Mineralogía:** Estructura de los cristales.

* **Hidrobiología y micropaleontología:** Cubiertas y esqueletos de polen, esporas, cocolitofóridos, diatomeas, dinoflagelados, silicoflagelados, foraminíferos, radiolarios, tintínidos, rotíferos, ostrácodos, cladóceros, copépodos, esponjas, corales, briozoos, braquiópodos, equinodermos, moluscos, etc. Discernimiento entre carbono estructural e incorporado en dataciones con C^{14} .

* **Industria:** Control de acabados de superficies como cromados, pinturas antiincrustantes. Análisis de oxidación y corrosión de superficies metálicas. Control de calidad de cerámicas, aleaciones, hormigón, etc. Efectos de las radiaciones sobre superficies de diferente composición.

* **Informática:** Inspección de microcircuitos electrónicos.

* **Medicina:** Calcificación, estructura de los huesos en relación a la edad del individuo. Superficies del hueso normal y patologías. Cálculos urinarios. Elementos figurados de la sangre. Cultivo de tejidos.

* **Medicina forense:** Análisis de pelos humanos y de animales en peritajes.

* **Microbiología:** Estructuras de bacterias y hongos.

* **Odontología:** Materiales odontológicos y esmalte dentario.

* **Paleontología:** Dientes fósiles, estructuras óseas.

* **Saneamiento ambiental:** Determinación de partículas contaminantes del aire y agua (tipos de polvo, asbesto, etc.).

Además de los electrones secundarios, usados para las imágenes topográficas, el MEB produce señales que hacen posible obtener varios otros tipos de información acerca de los especímenes, entre ellos la orientación cristalográfica o la posibilidad de llevar a cabo microanálisis cualitativo y cuantitativo por rayos X (por ejemplo, localización de metales pesados en tejidos de invertebrados acuáticos).